

2008年度 修士論文要旨

ヒト慢性骨髄性白血病細胞株 K562 に対するヘテロ環有機ピンス化合物の 分化誘導

関西学院大学大学院理工学研究科

生命科学専攻 矢倉研究室 秦野 勇吉

慢性骨髄性白血病の治療は STI571 (imatinib, Gleevec) による分化誘導療法が主流であるが、STI571 耐性細胞が生じるにもかかわらず他の有効な抗癌剤が開発されていないことが問題となっている。K562 は、慢性骨髄性白血病細胞株の分化誘導に関する研究のモデル細胞である。K562 に分化を誘導する化合物は Bcr-abl の阻害剤である STI571 の他に Taxol, colcemid, As_2O_3 などの微小管阻害剤が知られている。ヘテロ環有機ピンス化合物 #3 (Bi-chlorodibenzo [c, f] [1, 5] thiabismocine) は強力な微小管重合阻害作用を持ち、種々の白血病細胞株に対して強い抗癌活性を示すことから慢性骨髄性白血病の治療薬としての可能性があると考えられている。本研究は、#3 がその抗癌活性の一部として K562 に分化を誘導するかどうかの検証およびその作用機序の解明を目的として行われた。分化誘導の検証については、まず K562 に対する #3 の抗癌活性を調べ、ついでフローサイトメトリーにより分化マーカー CD33、赤血球マーカー Glycophorin A、顆粒球系マーカー CD11b の発現をそれぞれ調べた。赤血球系分化については、さらに Benzidine 染色、顆粒球系分化については Naphthol AS-D chloroacetate 染色を用いて検証した。巨核球系分化は細胞周期解析により行った。また分化誘導メカニズムの解析については K562 の癌化原因である異常なチロシンリン酸化への影響をフローサイトメトリーにより解析し、Bcr-abl への影響をウエスタンブロットなどによって解析した

以上の方法を用いて分化誘導の検証を行った結果、#3 による 12 時間処理では濃度依存的 (0.1-10 μ M) に K562 の Viability を減少させ、2.5 μ M では CD33 の発現を強く誘導するが、その誘導は細胞周期非依存的であることが示された。また赤血球マーカー glycophorin-A の発現も誘導したが、benzidine 染色では顕著な変化は見られなかった。一方、#3 は CD11b の発現を強く誘導し、specific esterase (+) 細胞が観察された。ついで分化誘導メカニズムの解析実験では、#3 処理により異常なチロシンリン酸化が抑制されることが分かった。

以上の結果は、#3 は慢性骨髄性白血病細胞株 K562 に対して、赤血球系への分化も誘導するが、主に顆粒球系への分化を強く誘導していることを示している。さらにそのメカニズムとしてチロシンリン酸化の抑制を介している可能性が示唆された。